

카드뮴 및 亜鉛投與에 의한 흰쥐의 臟器內 Cadmium蓄積 및 Metallothionein 生成變化

이재형 · 김정현 · 김남송* · 김준현* · 기노석*

경희대학교 대학원 환경학과, *전북대학교 의과대학 예방의학교실

A Study on Accumulation of Cadmium and Induction of Metallothionein in Organs of Rats by Cadmium and Zinc

Jae Hyung Lee, Jung Hyun Kim, Nam Song Kim*, Jun Hyun Kim* and No Suk Ki*

Department of Environmental Science, Graduate School of Kyunghee University

**Department of Preventive Medicine & Public Health, College of Medicine, Chonbuk National University*

ABSTRACT

Tolerance to toxic effects of cadmium (Cd), including lethality has been shown following pretreatment with cadmium and zinc. This study was designed to determine if tolerance also develops to Cd-induced hepatotoxicity and renal toxicity.

Three groups of rats (A, B, C), each consisting of 108 rats, were studied and each group was divided into three subgroups (1, 2, 3), 12 rats for each subgroup.

Rats were subcutaneously pretreated with saline (A), CdCl₂ (0.5 mg/kg, B), and ZnCl₂ (13.0 mg/kg, C) during time periods of 5 days. At the end of the period, rats were challenged with CdCl₂ (3.0 and 6.0 mg/kg) by intraperitoneal injection.

As for the cadmium levels in rat tissues after pretreatments, it was highest in the liver. Then kidney, heart, blood and muscle followed it in that order.

After 24, 48 and 96 hours of intraperitoneal injection by challenge doses the concentration of cadmium in liver and kidney increased proportionally to the increase of challenge dosage. However metallothioneins in liver and kidney were increased by the pretreatment of cadmium and zinc. These data indicate the liver is a major target organ of acute Cd poisoning, and suggest that cadmium induced hepatic injury, via release of Cd-MT, may play an important role in the nephrotoxicity observed in response to short-term exposure to cadmium. This result suggests that increasing cadmium concentrations, gradually accumulating in liver and kidney as the result of the pretreatment, served to induce the synthesis of metallothionein, thus making them resistant to the challenge from cadmium.

Keywords : Cadmium, metallothionein, zinc, cadmium chloride.

I. 서 론

카드뮴은 1817년 독일화학자 F. Strohmeyer에 의해 아연광에서 처음으로 인지된 이래 아연광의 제련 및 정제과정에서 부산물로 생성되고 있으며 산업발전에 따라 각종 제조업에서 광범위하게 사용되고 있다. 또한 카드뮴은 출생시 인체에는 거의 존재하지 않는 유해원소로 알려져 있으며, 호흡기와

소화기를 통하여 섭취되는데 호흡기에서는 흡입된 카드뮴의 약 40%가, 소화기에서는 섭취된 카드뮴의 약 5~6%가 체내로 흡수되며 가용성 염의 형태로 체내의 조직이나 장기에 축적되어 건강장애를 일으킨다.^{1,2)}

일반적으로 유해중금속이 생체내에 흡수되었을 경우 독성학적 방어기전으로는, 중금속에 노출된 각 표적장기 세포에서 지질과산화반응(lipid peroxida-

tion)을 통해 유리된 free oxygen radical의 공격에 대해 superoxide dismutase(SOD)나 catalase와 같은 scavenger를 유도하여 방어하기도 하고,³⁾ 중금속에 특이적으로 결합하는 물질들의 합성을 촉진하거나,^{4, 6)} 새로운 대사물로 전환시킴으로써 세포에 미치는 독성을 경감시킨다는 보고가 있다.⁷⁾

이 중 포유류에서 발견되어지는 metallothionein(MT)는 cystein을 다량 함유하고 중금속과 친화력이 높은 저분자량 복합단백질로 카드뮴과 아연을 포함한 2가지 형태의 MT가 말의 신장에서 분리된 후, 인간을 포함한 대부분의 동물조직에서 검출되는데, 정상적으로는 미량 존재하나 stress, 아사, glucocorticoid 및 중금속 등의 요인에 의해 유리된다.^{8,9)} 특히 중금속은 MT의 생성을 유도하는 가장 강력한 작용인이며,⁹⁾ 이 중 카드뮴, 수은, 아연 및 구리 등 2가 중금속이 대표적인 유도체로 알려져 있다.

이 중에서 아연은 1934년 Todd와 Bertrand에 의해 쥐의 성장발육에 필수적 원소로 보고된 이래 현재까지 알려져 있는 아연이 조효소로 관여하는 아연효소는 70가지 이상이 확인되어 있다.¹⁰⁾ 또한 체내에서 아연과 다른 금속간의 상호작용은 카드뮴과 가장 밀접한 상관을 갖고 있으며^{11,12)} 이때 아연은 카드뮴 독성을 경감시키는 길항작용과 역작용으로 카드뮴이 아연결핍증을 악화시키는 상승작용을 일으키는 것으로 알려져 있으나, 기능을 설명할 수 있는 작용 기전은 현재까지도 논란의 여지가 있다.

이에 본 연구에서는 인위적으로 카드뮴과 아연을 투여받은 실험동물에서 조직내 축적되는 카드뮴농도와 경시적인 독성학적 반응간에 밀접한 상관성이 존재하고 아연과 중금속의 유도물질인 MT가 카드뮴독성에 관여한다는 가설하에 투여농도에 따라 실험동물의 장기별 카드뮴 축적양상과 MT의 농도를 측정하고 이들 상호간의 관계를 밝힘으로써 카드뮴 중독의 기전 및 독성발현과정의 실험적 기준을 정하는데 일조가 되고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료

실험동물은 생후 6~7주된 체중 220 g 내외의 Sprague-Dawley계 흰쥐를 수컷만을 택하여 사용하였고 실험동물은 실험시작 2주 전부터 온도는 20~25°C로, 습도는 40~60%의 적정상상태로 유지하였고, 사료는 일반시판용 동물사료(켈렛사료, 제일사료 주식회사)로서 물과 함께 자유로이 섭취할 수 있도록 하면서 환경에 적응시켰다.

실험에 사용한 중금속은 cadmium chloride(CdCl₂, Sigma Chemical Co.) 및 zinc chloride(ZnCl₂, Sigma Chemical Co.)로써 모두 생리식염수에 용해시켜 사용하였다.

2. 실험방법

1) 실험동물군 및 약제투여

대조군(A)과 2개의 실험군(B, C)으로 구분하였으며, 각 군은 다시 3개의 소군(1, 2, 3)으로 구분하여 1개 소군마다 12마리씩의 쥐를 사용하였다. 5일간의 전처리 과정에서 대조군(A)은 생리식염수 0.2 ml만을, 실험군 B는 CdCl₂ 0.5 mg/kg을, C는 ZnCl₂ 13.0 mg/kg의 용량으로 각각 1일 1회 피하주사하였다.

전처리로부터 48시간이 경과한 후, 각각의 실험군과 대조군의 제 1 소군에는 생리식염수만을, 제 2, 3 소군에는 CdCl₂을 각각 3.0 mg/kg, 6.0 mg/kg의 농도로 복강내 주사하였다. 카드뮴과 아연의 전처리 투여방법은 예비실험 및 Eaton과 Toal의 방법¹⁶⁾을 참고로 하여 각 조직내, 세포학적 독성을 유발하지 않으며 중금속 축적량과 MT생산량을 관찰하기에 적합한 농도였으며, 고농도 카드뮴의 복강투여 용량은 48 hour-LD₅₀(50% lethal dose : 9.0 mg CdCl₂/kg, 김정현 등¹³⁾)의 2/3 및 1/3에 해당하는 농도로 하였다.

2) 실험동물의 처치 및 장기적출

5일간의 전처리 과정에서 각 장기에 축적되거나 생성되는 카드뮴, 아연 및 MT의 농도를 알아보기 위하여 5일째 전처리 과정이 끝난 다음 24시간 및 48시간 후에 각각의 군에서 4마리씩 희생하여 즉시 개복한 다음 심장대동맥에서 3~4 ml의 혈액을 채취하였으며 이어 간장, 신장, 심장 및 근육을 적출하여 실험에 사용하였다.

한편 복강처리로부터 24시간, 48시간 및 96시간이 경과한 다음 각 소군당 4마리씩 1회 총 36마리를 경부탈구로써 희생시키고 간장과 신장을 적출하여 카드뮴축적 정도와 MT농도 측정에 사용하였다.

한편 MT농도의 측정에 쓰일 hemolysate는 실험과 무관한 흰쥐를 복강절개하여 심장천자에 의해 채취한 혈액으로 제조하였다.

3) 조직내 중금속 농도측정

혈액 및 조직내 총 카드뮴량을 정량하기 위해 혈액은 황인담 등¹²⁾의 방법으로, 간장, 신장, 심장 및 근육은 Fuwa¹⁴⁾의 방법을 일부 수정하여 전처리하였다. 즉, 적출한 조직 중 혈액은 3~5 ml정도, 심장은 0.5 g, 간장, 신장 및 근육은 1 g을 취하여 생리식염수로 세척한 후, 통상의 수기에 의한 질산-

황산-과염소산분해법에 따라 가열, 분해시키고 DDTC-MIBK를 사용하여 chelate화합물을 유출하여 측정용 시료로 사용하였다. 사용한 시약은 유해급 속측정용과 원자흡광분석용이며, 측정은 원자흡수분광광도계(atomic absorption spectrophotometer, IL 551 U.S.A.), 가스는 air-acetylene이었다.

4) 조직 내 MT농도 측정

MT농도의 측정은 Onosaka 등의 방법¹⁵⁾과 Eaton과 Toal의 Cd-hemoglobin affinity법¹⁶⁾을 참고하여 다음과 같이 실시하였다.

적출한 간조직 1g과 신장조직 0.5g을 생리식염수로 세척한 후, 자당용액(sucrose)을 가하면서 homogenizer를 이용하여 균질화하고 18,000G, 4°C에서 20분간 원심분리하여 상층의 세포액(cytosol)을 얻었다. 세포액 0.2 ml에 0.03 M Tris-HCl(pH 8.0)

를 첨가하여 2.4 ml이 되게 한 다음, 10 ppm의 CdCl₂ (standard solution) 1 ml로 포화시키고 실온에서 5분간 정치하였다. 여기에 RBC hemolysate 0.2 ml를 가하여 과량의 카드뮴과 MT이외의 모든 bioligand를 제거하고 100°C water bath에 1분간 정치시켜 Cd-bound hemoglobin을 변성시킨 후, 5분간 원심분리(1,000G)하여 상층액을 취하였다.

이상과 같은 hemolysate 첨가, 열처리 및 원심분리과정을 3회 반복하여 얻은 시료를 측정에 이용하였다.

5) 자료정리 및 분석

실험결과 얻은 각 횡위의 조직내 카드뮴, 아연 및 MT의 측정자료는 그룹간, 투여농도간 차이를 검정하기 위해 Nestid 분산분석을 수행하였으며, 자료의 통계처리는 개인컴퓨터용 SAS를 이용하였다.

Table 1. Cadmium, zinc and metallothionein levels in rat tissues after 24 hours of pretreatment by daily subcutaneous injection for 5 days

Tissue	Metal	Group A	Group B	Group C
Blood	Cd	<0.01	0.05±0.02	<0.01
	Zn	4.56±1.08 ^a	4.71±0.53	5.03±0.62
	MT	<0.01	<0.01	<0.01
Heart	Cd	0.01±0.01	0.78±0.08*	0.03±0.02
	Zn	10.83±3.21	15.27±2.20	18.91±2.72
	MT	<0.01	0.03±0.01	<0.01
Kidney	Cd	0.31±0.05	7.28±0.51*	0.31±0.09
	Zn	25.98±3.21	39.82±2.15	31.88±3.34
	MT	0.03±0.01	0.29±0.07*	0.07±0.03
Liver	Cd	0.18±0.03	16.34±1.26**	0.40±0.11
	Zn	25.82±4.03	58.29±7.22 [‡]	37.28±6.27
	MT	0.04±0.01	2.03±0.51*	0.25±0.10
Muscle	Cd	<0.01	0.04±0.01	0.01±0.01
	Zn	14.18±2.15	20.08±3.11	21.22±3.4
	MT	<0.01	<0.01	<0.01

^aValues represents Mean±S.D. of 4 rats per subgroup. Contents are expressed as µg/g wet weight except for blood (µg/ml).

*p<0.05, **p<0.01 (comparison with group A and C).

[‡]p<0.05 (comparison with group A). Detection limit is 0.01 (µg/ml).

Group A: Pretreated with physiological saline by daily subcutaneous injection for 5 days.

Group B: Pretreated with CdCl₂ (0.5 mg/kg) by same method as group A.

Group C: Pretreated with ZnCl₂ (13.0 mg/kg) by same method as group A.

Table 2. Cadmium, zinc and metallothionein levels in rat tissues after 48 hours of pretreatment by daily subcutaneous injection for 5 days

Tissue	Metal	Group A	Group B	Group C
Blood	Cd	0.01±0.01	0.08±0.02*	0.01±0.01
	Zn	4.82±1.41	5.38±0.48	5.98±0.26
	MT	<0.01	<0.01	<0.01
Heart	Cd	0.02±0.01	0.75±0.05*	0.03±0.02
	Zn	12.42±2.31	16.43±1.62	18.25±2.11
	MT	<0.01	0.03±0.01	<0.01
Kidney	Cd	0.28±0.04	7.42±0.69**	0.34±0.15
	Zn	24.07±3.54	39.81±3.54	43.88±3.47
	MT	0.04±0.01	0.36±0.08*	0.06±0.03
Liver	Cd	0.17±0.03	15.18±1.19**	0.39±0.11
	Zn	26.69±2.83	43.63±3.71 [‡]	85.06±6.95 ^{‡*}
	MT	0.04±0.01	1.92±0.45**	0.17±0.05
Muscle	Cd	<0.01	0.05±0.01	0.01±0.01
	Zn	18.20±2.48	21.49±2.26	19.33±1.14
	MT	<0.01	<0.01	<0.01

^aValues represents Mean±S.D. of 4 rats per subgroup. Contents are expressed as µg/g wet weight except for blood (µg/ml).

*p<0.05, **p<0.01 (comparison with group A and C).

[‡]p<0.05, ^{‡*}p<0.01 (comparison with group A). Detection limit is 0.01 (µg/ml).

Group A: Pretreated with physiological saline by daily subcutaneous injection for 5 days.

Group B: Pretreated with CdCl₂ (0.5 mg/kg) by same method as group A.

Group C: Pretreated with ZnCl₂ (13.0 mg/kg) by same method as group A.

III. 연구결과

1. 개체 사망수

생리식염수로 전처리한 후, 2일째 6.0 mg/kg의 카드뮴을 투여받은 군에는 12마리 중 3마리가 48시간 이내에 사망하였고, 아연 전처리 및 카드뮴 전처리군에서는 사망개체가 없었다. 사망한 전개체는 실험에 사용하지 않았으나 부족한 실험동물은 같은 투여방법으로 카드뮴을 투여하여 충원시켰다.

2. 전처치에 의한 조직 중 중금속 및 MT 농도

5일간 전처리 후 24시간 및 48시간째 각 조직의 카드뮴농도는 생리식염수를 투여한 대조군(A)의 경우, 신장이 가장 높고 간장, 심장, 혈액, 근육 순이었다. 특히 실험군 중 카드뮴 전처리군(B)에서의 혈액, 심장, 신장, 간장의 카드뮴농도는 대조군이나 아연 전처리군(C)의 농도에 비해 유의하게 높았다 ($p < 0.05$, Table 1, 2).

또한 전처리 후 24시간 및 48시간째 아연농도는 Table 3에서와 같이 대조군(A)의 경우 신장과 간장이 높았고, 근육, 심장, 혈액 순이었으나 실험군(B, C)에서는 간장, 신장, 근육, 심장, 혈액 순으로 낮아졌다. 한편 실험군(B, C)에서의 간장내 아연농도 역시 대조군(A)의 농도에 비하여 유의하게 높았다 ($p < 0.05$).

3. 조직내 카드뮴과 MT농도

1) 간장내 농도

전처리 후 고농도의 카드뮴을 더 이상 투여받지 않은 대조군(A)과 실험군(B, C)내 제 1 소군(A₁, B₁, C₁)의 24시간째 카드뮴농도는 각각 0.22 ± 0.02 , 12.78 ± 1.42 , 0.50 ± 0.11 $\mu\text{g/g}$ 이었고, 48시간째 농도는 0.34 ± 0.05 , 15.38 ± 0.95 , 0.61 ± 0.66 $\mu\text{g/g}$, 96시간째 농도는 0.26 ± 0.08 , 17.82 ± 2.06 , 0.69 ± 0.15 $\mu\text{g/g}$ 이었으며, 카드뮴농도의 증가에 따라 제 2, 3 소군의 농도는 24시간, 48시간 및 96시간째 모두 용량대 반응의 지속적인 증가를 보였다(Table 3~5). 특히 카드뮴으로 전처리한 B군의 각 소군 농도는 A군의 전반에 비해 현저하게 높았으며 ($p < 0.01$), C군의 24시간째 각 소군 농도 역시 A군의 소군보다 높았다 ($p < 0.05$).

MT의 경우 각군내 제 1 소군(A₁, B₁, C₁)의 24시간째 MT농도는 각각 0.10 ± 0.01 , 1.41 ± 0.24 , 0.20 ± 0.03 이었고, 48시간째 농도는 0.09 ± 0.01 , 0.95 ± 0.27 , 0.66 ± 0.09 mg/g, 96시간째 농도는 0.05 ± 0.01 , 0.23 ± 0.10 , 0.07 ± 0.03 mg/g이었다. 카드뮴 투여농도에 따라 24시간, 48시간의 B군은 지속적인 증가를 보였고, C군은 24시간째에는 증가되었지만 C₂와 C₃ 48시간째 이후 농도는 오히려 감소하는 경향이거나 비슷한 수준이었다.

특히 24시간, 48시간, 96시간째의 B군의 각 소군 농도는 A군의 각 소군 농도에 비하여, C군의 3소군은 A군의 3소군에 비하여 24시간째 높게 나타났다 ($p < 0.05$).

Table 3. Cadmium and metallothionein levels of rat organs after 24 hours of intraperitoneal injection by challenge dosages of CdCl₂

Tissue	Cd/MT	Group A			Group B			Group C		
		A ₁	A ₂	A ₃	B ₁	B ₂	B ₃	C ₁	C ₂	C ₃
Liver	Cd ($\mu\text{g/g}$)	0.22 ± 0.02^a	13.87 ± 3.15	24.69 ± 6.03	$12.78 \pm 1.07^*$	$46.68 \pm 3.05^*$	$57.83 \pm 5.09^{\#}$	0.50 ± 0.11	$20.39 \pm 2.70^{\#}$	$44.30 \pm 4.36^{\#}$
	MT (mg/g)	0.10 ± 0.01	0.34 ± 0.04	0.37 ± 0.11	$1.42 \pm 0.24^{**}$	$3.64 \pm 0.29^*$	$4.92 \pm 0.56^{\#}$	0.20 ± 0.03	0.91 ± 0.24	$2.45 \pm 0.57^{\#}$
Kidney	Cd ($\mu\text{g/g}$)	0.25 ± 0.02^a	2.92 ± 3.13	11.07 ± 2.84	$4.33 \pm 0.12^*$	$16.12 \pm 3.37^*$	16.34 ± 3.72	0.29 ± 0.12	6.15 ± 0.27	12.18 ± 0.74
	MT (mg/g)	0.06 ± 0.01	0.08 ± 0.02	0.15 ± 0.04	0.10 ± 0.02	$0.73 \pm 0.09^*$	$0.86 \pm 0.13^*$	0.07 ± 0.01	0.14 ± 0.03	0.19 ± 0.06

^aValues represents mean \pm S.D. of 4 rats per subgroup. Contents are expressed as $\mu\text{g/g}$ wet weight g.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ (comparison with group A and C).

[#] $p < 0.05$, ^{##} $p < 0.01$ (comparison with group A).

Pretreatments of group A, B, C are same as in Table 2.

Subgroup 1 was given of physiological saline by intraperitoneal injection. Subgroup 2 and 3 were given challenge doses of 3.0 and 6.0 mgCd/kg by intraperitoneal injection, respectively.

Table 4. Cadmium and metallothionein levels of organs in the rat after 48 hours of intraperitoneal injection by challenge dosages of CdCl₂

Tissue	Cd/MT	Group A			Group B			Group C		
		A ₁	A ₂	A ₃	B ₁	B ₂	B ₃	C ₁	C ₂	C ₃
Liver	Cd (µg/g)	0.34±0.05 ^a	12.54±1.03	22.72±3.48	15.38±1.57 ^{**}	43.01±4.22 [*]	62.10±5.25 ^{**}	0.61±0.13	14.20±1.03	26.59±4.88
	MT (mg/g)	0.09±0.01	0.43±0.16	0.76±0.19	0.95±0.27 [*]	2.46±0.53	3.82±0.58 ^{‡‡}	0.66±0.09 [‡]	2.53±0.31 [‡]	2.72±0.17 [‡]
Kidney	Cd (µg/g)	0.31±0.05 ^a	9.81±1.03	11.27±3.48	5.26±1.57 ^{**}	14.25±4.22 [*]	27.93±5.25 ^{**}	0.63±0.13	7.76±1.03	10.03±4.88
	MT (mg/g)	0.04±0.01	0.10±0.02 [‡]	0.31±0.08	0.18±0.04 [‡]	0.34±0.05	0.82±0.17 ^{‡‡}	0.11±0.02	0.28±0.12	0.42±0.20

^aValues represents mean±S.D. of 4 rats per subgroup. Contents are expressed as µg/g wet weight g.

*p<0.05, **p<0.01 (comparison with group A and C).

[‡]p<0.05, ^{‡‡}p<0.01 (comparison with group A).

Pretreatments of group A, B, C are same as in Table 2.

Subgroup 1 was given of physiological saline by intraperitoneal injection. Subgroup 2 and 3 were given challenge doses of 3.0 and 6.0 mgCd/kg by intraperitoneal injection, respectively.

Table 5. Cadmium and metallothionein levels of organs in the rat after 96 hours of intraperitoneal injection by challenge dosages of CdCl₂

Tissue	Cd/MT	Group A			Group B			Group C		
		A ₁	A ₂	A ₃	B ₁	B ₂	B ₃	C ₁	C ₂	C ₃
Liver	Cd (µg/g)	0.26±0.08 ^a	13.45±1.82	23.38±3.72	17.82±2.06 ^{**}	46.68±5.31 ^{**}	58.29±6.28 [*]	0.69±0.15	10.22±2.18	30.21±3.76
	MT (mg/g)	0.05±0.01	0.28±0.07	0.35±0.12	0.23±0.10	1.87±0.38 ^{‡‡}	2.26±0.44 ^{‡‡}	0.07±0.03	1.08±0.18	0.79±0.21
Kidney	Cd (µg/g)	0.27±0.05	12.43±1.51	22.76±4.30	7.55±1.83 ^{**}	20.06±2.15 [*]	34.72±3.18	0.38±0.12	8.56±1.25	18.27±2.05
	MT (mg/g)	0.02±0.01	0.09±0.02	0.14±0.05	0.06±0.03	0.27±0.08	0.51±0.16	0.05±0.02	0.15±0.03	0.20±0.03

^aValues represents mean±S.D. of 4 rats per subgroup. Contents are expressed as µg/g wet weight g.

*p<0.05, **p<0.01 (comparison with group A and C).

[‡]p<0.05, ^{‡‡}p<0.01 (comparison with group A).

Pretreatments of group A, B, C are same as in Table 2.

Subgroup 1 was given of physiological saline by intraperitoneal injection. Subgroup 2 and 3 were given challenge doses of 3.0 and 6.0 mgCd/kg by intraperitoneal injection, respectively.

2) 신장내 농도

카드뮴의 경우, 각군의 제 1 소군 농도는 24시간째에 0.25±0.02, 4.33±0.12, 0.29±0.12 µg/g이었으며, 48시간째 농도는 0.4±0.01, 0.18±0.04, 0.11±0.02 µg/g, 96시간째 농도는 0.02±0.01, 0.06±0.03, 0.05±0.02 µg/g이었으며, 카드뮴 부여농도의 증가에 따

라 제 2, 3 군의 농도는 24시간, 48시간 및 96시간에 모두 각 군의 1소군(A₁, B₁, C₁)에 비하여 증가하는 경향을 보였다(Table 3~5).

각군간의 농도 차이는 24시간째 B군의 1, 2소군의 A군과 C군의 1, 2소군에 비하여, 48시간 및 96시간째 B군의 1, 2, 3소군은 A군과 C군의 1, 2, 3소군에 비

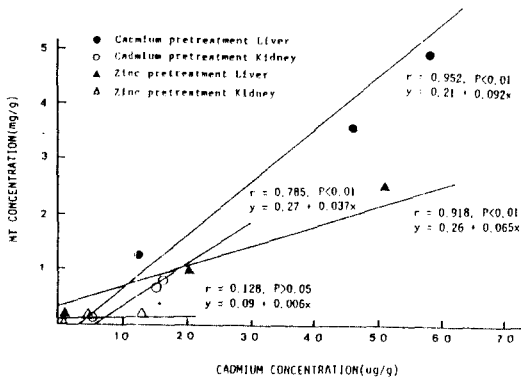


Fig. 1. Relationship between cadmium and MT in liver and kidney of rats at 24 hours given intraperitoneal administration of Various dosages of CdCl₂ after short-term subcutaneous pretreatment.

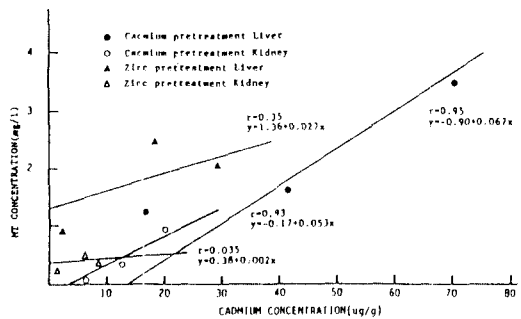


Fig. 2. Relationship between cadmium and MT in liver and kidney of rats at 24 hours given intraperitoneal administration of Various dosages of CdCl₂ after short-term subcutaneous pretreatment.

하여 높은 농도를 보였다(p<0.05).

MT의 경우, 각 군의 제 1 소군 농도는 24시간째에 0.06±0.01, 0.10±0.02, 0.07±0.01 mg/g이었고, 48 시간째 농도는 0.09±0.01, 0.95±0.27, 0.66±0.09 mg/g, 96시간째 농도는 0.02±0.01, 0.06±0.03, 0.05±0.02 mg/g이었으며, 카드뮴 투여농도의 증가에 따라 각 군의 농도도 대체로 증가하는 경향을 보였다 (Table 8~10). 24시간째 B군의 2,3소군의 농도는 A군과 C군의 2,3소군에 비하여, 48시간째 B군과 C군의 1, 2, 3소군은 A군의 1, 2, 3소군에 비하여, 96 시간째 B군의 2, 3소군의 A군의 2, 3군에 비하여 높게 나타났다(p<0.05).

3) 카드뮴과 MT농도와의 관계

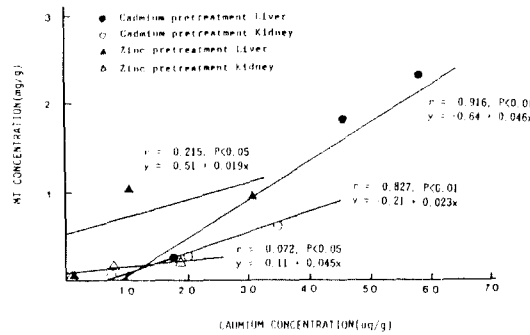


Fig. 3. Relationship between cadmium and MT in liver and kidney of rats at 96 hours given intraperitoneal administration of Various dosages of CdCl₂ after short-term subcutaneous pretreatment.

카드뮴과 아연 전처치에 의한 간장 및 신장 중 카드뮴농도와 MT농도와의 상호관계는 그림에서와 같이 간장과 신장 모두 카드뮴 전처치군의 24시간째 상관계수는 r=0.952 및 r=0.918, 48시간째는 r=0.953 및 r=0.959, 96시간째는 r=0.916 및 r=0.827 로써 아연 전처치군의 24시간째 상관계수 r=0.785 및 r=0.128, 48시간째는 r=0.353 및 r=0.035, 96 시간째는 r=0.215 및 r=0.072에 비해 현저히 높게 나타났다(Fig. 1~3).

IV. 고 찰

카드뮴과 아연은 유사한 화학적 성질로 인하여 카드뮴중독과 아연의 상호작용에 대해 많은 연구가 이루어져 왔다. 과거에는 동물실험을 이용하여 카드뮴중독에 대한 아연의 방어작용이 관찰되었고,^{8,17)} 근래에 들어 이들 중금속의 독성방어에 관여하는 것으로 알려진 MT의 생화학적 특성 및 생물학적 기능이 여러 연구자들에 의해 점차 밝혀지게 되었다.^{9,15,18)}

지금까지의 연구결과로는 저농도의 카드뮴 및 아연을 실험동물에 전처치한 후 고농도의 중금속을 투여하여, 독성과 관련한 여러 효소들의 활성변화¹⁹⁻²²⁾ 및 조직손상을 초래하지 않으면서 중금속의 축적에 따른 MT생성을 유도하는 방법에 대한 연구들이 MT의 중금속독성에 대한 방어효과를 밝히는데 의의있는 자료를 제공하고 있다.^{6,17,23-28)} 또한 최근에는 *in vitro*에서 배양한 세포에 아연 혹은 MT유도체를 전처치한 후 중금속을 여러 가지 농도로 첨가한 경우에도 MT가 중금속독성에 대한

방어효과가 있음이 밝혀졌다.^{29, 30)}

이외에도 조직내에 축적되는 카드뮴의 형태,^{27, 30-32)} 투여기간,^{25, 26, 33)} 투여경로^{34, 35)} 및 투여량에^{19, 29)} 따라서도 중금속독성에 대한 방어효과가 차이가 있음을 보고하고 있다.

한편 본 조사에서 나타난 생리식염수 처리군의 각 조직내 카드뮴 농도는 간장에서 0.22 µg/g로 차철환³⁶⁾의 0.09 µg/g보다는 높았고, 강영미³⁷⁾의 0.20 µg/g와는 비슷한 농도였으며, 안령미 등³⁸⁾의 2.95 µg/g보다는 낮게 나타났다. 또한 신장에서는 0.25 µg/g로 차철환³⁶⁾의 0.38 µg/g와 강영미³⁷⁾의 0.46 µg/g와는 비슷한 농도였으며 안령미 등³⁸⁾의 7.58 µg/g보다는 낮게 나타났다. 이와 같이 정상 사육된 흰쥐의 조직내 농도를 조사한 경우에도 연구자들간에 성적 차이를 나타낸 것은 공기중이나 섭취 음식물 내에 함유된 카드뮴량의 차이에 기인하고 있겠으나 분석방법에 따른 차도 클 것으로 생각된다. 한국인 체내 카드뮴 함량을 비교한 김현 등³⁹⁾의 자료에 의하면 국내 9개의 학술지에 발표된 정상인의 조직내 농도가 산술평균 비교에서 최고 47.7배까지 차이가 난다고 보고한 바 있어 앞으로는 연구기관들의 정도관리와 체계적 연구가 요구된다고 사료된다.

본 실험에서는 생리식염수, 저농도의 카드뮴 및 아연을 5일간 일정농도를 전처치한 후 고농도의 카드뮴을 투여하여 시간경과에 따라 각 조직의 카드뮴 및 아연농도를 파악하고 이들에 의해 유도된 MT의 농도를 조사하였다. 그 결과 생리식염수로 전처치한 후 카드뮴을 투여한 실험군을 비교하여 보면 카드뮴에 급성 폭로시 혈액 및 조직내의 카드뮴농도는 카드뮴 투여량에 따라서 용량대반응의 관계가 있다는 연구들⁴⁰⁻⁴²⁾과 마찬가지로 혈액 및 조직내의 시간경과에 따른 카드뮴 농도는 전처치방법과 각 조직에 따라 달랐으나 카드뮴 투여량에 따라서는 계속적인 증가를 보여 조직내 카드뮴농도의 변화는 폭로시간보다는 투여량에 더 잘 일치하였다. 또한 MT의 생성량에 있어서도 카드뮴 투여군에서 가장 높게 나타났으며 합성하는 조직은 간장과 신장으로 간장의 MT생성량이 신장의 생성량보다 높게 나타나 Michael 등³²⁾과 Jin 등²⁶⁾의 투여물질과 체내조직에 따라 MT생성량이 크게 변화된다는 연구결과와 일치하였다.

또한 생리식염수로 전처치한 후 카드뮴을 투여한 대조군과 카드뮴으로 전처치한 후 카드뮴을 투여한 실험군을 비교하여 보면, 대조군에서는 실험 개체의 사망이 고찰되었으나 실험군에서는 사망이 없었고 실험군의 간장내 카드뮴농도는 현저하게 증가함과

동시에 MT농도도 그 이상으로 증가되었으며 이렇게 증가된 MT가 고농도의 카드뮴 투여에 의한 독성을 억제하는데 효과가 있는 것으로 추측된다.

이와 같이 노출기간의 증가에 따라 간에서 신장으로의 표적장기 변화는 간에서 생성된 MT가 카드뮴과 결합하여 Cd-MT 복합체를 형성하고 혈액을 통하여 신장의 뇨세관에 침착한 다음, Cd-MT 복합체가 다시 용해소체에 의해 분해되어 이때 방출된 카드뮴이온에 의해 신장조직이 손상을 받는다고 설명하고 있다. 이는 생성된 MT가 조직의 중금속독성을 경감시키는데 결정적인 역할을 담당함과 동시에 각 조직별로 MT생성능력에 따라 방어정도의 차이를 보이고 표적장기가 변화됨을 알 수 있다. 이에 대해 Sendelbach와 Klaassen²⁸⁾은 카드뮴의 형태에 따른 MT생성량의 차이를 보고하였는데, 이러한 차이는 주로 간장에 존재하는 CdCl₂에 의해 생성되는 MT의 양에 비하여 주로 신장에 분포하는 Cd-MT에 의해 생성될 수 있는 MT의 양이 현저하게 적고 신장에서 용해소체에 의해 분해된 Cd이온이 매우 적은 양의 MT를 생성하기 때문에 만성 카드뮴중독시 신장이 표적장기가 되고 급성중독시 간장이 표적장기가 된다는 것이다. 본 실험에서도 CdCl₂로 5일간 전처치한 경우, 신장에 비하여 간장조직에서 더 높은 카드뮴과 MT농도로 나타나 급성 카드뮴노출에 의한 표적장기는 간장이라는 사실을 잘 반영하고 있다.

아연 전처치에 의한 방어효과는 12.0 mg/kg의 아연을 1회 피하주사한 후 4.0 mg/kg의 카드뮴을 정맥주사한 Goering와 Klaassen²⁸⁾의 실험에서 간장의 MT농도가 생리식염수를 투여한 대조군에 비하여 25~45배 높게 나타났고 조직학적으로도 괴사, 부종, 핵위축 등의 손상 소견이 관찰되지 않아 아연 전처치가 MT를 생성시키는 유효한 유도체임을 보여 주었다. 본 실험에서는 5일간 아연을 전처치한 간장에서 MT의 농도가 대조군에 비하여 약 60배 정도 증가하였고 복강 투여군에서도 약 6배 정도 증가하여 나타났으나 카드뮴 전처치군보다는 대체로 낮게 나타났으며 조직내 MT의 생산능(potency)과 효율(efficiency)에 있어서도 아연 전처치가 카드뮴 전처치에 비하여 낮았다. 또한 아연 전처치 후 조직중 카드뮴농도는 카드뮴 전처치 후 조직중 카드뮴농도에 비하여 현저히 낮았고 생리식염수 전처치 후 카드뮴농도와 비슷하거나 오히려 감소하였다. 이상의 결과로 보아 아연 전처치에 의해 생성된 MT는 카드뮴 전처치로 생성된 MT가 조직내 축적된 카드뮴과 특이적으로 결합함으로써 방어효과를 보

이는 것과는 차이가 있으며, MT보다는 아연이 일차적으로 카드뮴과 결합함으로써 조직내 카드뮴농도를 감소시키는 것으로 추측된다.

따라서 아연 전처치에 의한 방어효과는 카드뮴 전처치에 의한 MT의 방어효과와는 다른 기전으로 설명이 가능하리라 생각되며, 추후 조직 뿐만 아니라 혈액 및 요중 중금속농도와 MT농도가 추가되거나 중금속 방어기전에 관여하는 MT이외의 다른 방어인자에 대한 연구가 요구된다.

V. 결 론

급성카드뮴 중독에 대한 조직내 축적과 독성을 파악하고자 흰쥐에 단기간(5일) 피하주사하고, 카드뮴 3.0 mg/kg, 6.0 mg/kg를 복강내로 1회 투여한 다음 24시간, 48시간 및 96시간 후에 간장 및 신장을 적출하여 카드뮴, 아연의 축적농도 및 MT의 생성농도를 비교하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

5일간 전처치 후 조직내 함량은 간장에서 가장 높았고 신장, 심장, 혈액, 근육의 순이었으며, 아연 함량은 간장, 신장, 근육이 혈액과 심장보다 높게 나타났다. 또한 전처치 후, 카드뮴 복강투여농도의 증가에 따라 간장과 신장의 카드뮴농도는 모든 군에서 투여용량에 비례하여 증가하였으며, 전반적으로 카드뮴 전처치군에서 생리식염수 및 아연으로 전처치한 군보다 그 축적농도가 현저히 높았고, 복강투여 후 96시간까지 각 조직의 카드뮴농도 역시 24시간째와 같이 간장에서 높게 나타났다.

MT의 농도는 간장의 경우, 카드뮴 전처치군에서 역시 가장 높았으며, 아연 전처치군, 생리식염수 전처치군의 순으로 투여용량과 비례하여 증가하였으나, 신장의 경우는 카드뮴 전처치군과 아연 전처치군간의 차이가 뚜렷하지 않았고, 전처치 후 복강투여농도가 가장 높았던 제3소군의 경우 오히려 그 이하의 농도로 투여한 제2소군에 비해 MT의 농도가 낮은 경향이었는데 전반적으로 카드뮴 투여농도와 MT농도와의 관계는 간장과 신장 모두 카드뮴 전처치가 아연 전처치에 비해 MT를 생산하는 능력과 효력에 있어 높게 나타났다.

참고문헌

- 1) Lewis, G. D. : Cadmium Accumulation in Man. *J. Chron Dis.*, **25**, 717, 1972.
- 2) Fassett, D. W. : Metal in the Environment. New York, Academic Press., pp.61-100, 1980.

- 3) Stacey, N. H. and Klaassen, C. D. : Comparison of the Effects of Metals on Cellular Injury and Lipid Peroxidation in Isolated Rat Hepatocyte. *J. Toxicol Environ Health*, **7**, 139, 1980.
- 4) Squibb, K. S. and Cousins, R. J. : Control of Cadmium Binding Protein Synthesis in Rat Liver. *Environ Physiol Biochem.*, **4**, 220, 1974.
- 5) Webb, M. and Etienne, A. T. : Studies on the Toxicity and Metabolism of Cadmium Thionein. *Biochem. Pharmacol.*, **26**, 25, 1976.
- 6) Probst, G. S., Bousquet, W. F. and Miya, T. S. : Kinetics of Cadmium-Induced Hepatic and Renal Metallothionein Synthesis in the Mouse. *Toxicol Appl. Pharmacol.*, **39**, 51, 1977a.
- 7) Probst, G. S., Bousquet, W. F. and Miya, T. S. : Correlation of Hepatic Metallothionein Concentrations with Acute Cadmium Toxicity in the Mouse. *Toxicol Appl. Pharmacol.*, **39**, 61, 1977b.
- 8) Cherian, M. G. and Goyer, R. A. : Metallothioneins and Their Role in the Metabolism and Toxicity of Metals. *Life Sci.*, **23**, 1, 1979.
- 9) Onosaka, S., Tanaka, K. and Cherian, M. G. : Effects of Cadmium and Zinc on Tissue Levels of Metallothionein. *Environ Health Perspect*, **54**, 67, 1984.
- 10) Goyer, R. A. : Toxic Effects of Metals. In : Amdur, M.O., Klassen, D. J. (eds), Casarett and Koull's Toxicology, 4th ed., Pergamon Press, Inc., New York, 634-638, 1991.
- 11) Waldron, H. A. : Metal in the Environment. London, Academic Press, 155-159, 1980.
- 12) 황인담, 기노석, 이재형, 박인서 : 일부 중소도시 기혼여성의 혈액 및 뇨중 중금속함량의 상관성에 관한 연구. *예방의학회지*, **20**, 49, 1987.
- 13) 김정현, 이재형, 고대하, 기노석 : Selenium에 의한 흰쥐의 장기내 MT변화와 Cd에 미치는 영향. *환경위생학회지*, **18**(3), 95-103, 1992.
- 14) Fuwa : Determination of Zinc in Biological Materials by AAS. *Anal. Chem.*, **36**, 2407, 1964.
- 15) Onosaka, S., Tanaka, K., Doi, M. and Odahara, K. : A Simplified Procedure for Determination of Metallothionein in Animal Tissues. *Eisei Kagaku*, **24**, 128, 1978.
- 16) Eaton, D. L. and Toal, B. F. : Evaluation of the Cd/Hemoglobin affinity Assay for the Rapid Determination of Metallothionein in Biological Tissues. *Toxicol Appl. Pharmacol.*, **66**, 134, 1982.
- 17) Goering, P. L. and Klaassen, C. D. : Altered Subcellular Distribution of Cadmium Following Cad-

- mium Pretreatment : Possible Mechanism of Tolerance to Cadmium-Induced Lethality. *Toxicol Appl. Pharmacol.*, **70**, 195, 1983.
- 18) Dunn, M. A., Blalock, T. L. and Cousins, R. J. : Metallothionein. *Proc. Soc. Experi. Bio. Med.*, **185**, 107, 1987.
 - 19) Eaton, D. L., Stacey, N. H., Wong, K. L. and Klaassen, C. D. : Dose-Response Effects of Various Metal Ions on Rat Liver Metallothionein, Glutathione, Heme Oxygenase, and Cytochrome P-450. *Toxicol Appl. Pharmacol.*, **55**, 393, 1980.
 - 20) Goering P. L. and Klaassen, C. D. : Zinc-Induced Tolerance to Cadmium Hepatotoxicity. *Toxicol Appl. Pharmacol.*, **74**, 299, 1984a.
 - 21) Goering, P. L. and Klaassen, C. D. : Tolerance to Cadmium-Induced Hepatotoxicity Following Cadmium Pretreatment. *Toxicol Appl. Pharmacol.*, **74**, 308, 1984b.
 - 22) Agarwal, A. K. : Metabolic Alterations in Liver and Testes of Adult and New Born Rats Following Cadmium Administration. *Bull Environ Contam Toxicol.*, **40**, 569, 1988.
 - 23) Faeder, E. J., Chanet, S. Q. and King, L. C. : Biochemical and Ultrastructural Changes in Livers of Cadmium Treated Rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **39**, 473, 1977.
 - 24) Gregory, S. P., William, F. B. and Tom, S. M. : Correlation of Hepatic Metallothionein with Acute Cadmium Toxicity in the Mouse. *Toxicol Appl. Pharmacol.*, **39**, 61, 1977.
 - 25) Dudley, R. E., Gammal, L. M. and Klaassen, C. D. : Cadmium-Induced Hepatic Cadmium Metallothionein in Nephrotoxicity. *Toxicol Appl. Pharmacol.*, **77**, 414, 1985.
 - 26) Jin, T., Nordberg, G. F. and Nordberg, M. : Resistance to acute Nephrotoxicity Induced by Cadmium-Metallothionein Dependence on Pretreatment with Cadmium Chloride. *Pharmacol. Toxicol.*, **61**, 89, 1987.
 - 27) Lehman, L. D., Andrew, G. K. and Klaassen, C. D. : Mechanisms of Regulation of Rat Hepatic Metallothionein-I and Metallothionein-II Levels Following Administration of Zinc. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **92**, 1, 1988.
 - 28) Sendelbach, L. E. and Klaassen, C. D. : Kidney Synthesizes Less Metallothionein than Liver in Response to Cadmium Chloride and Cadmium Metallothionein. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **92**, 95, 1988.
 - 29) Kostonis, F. N. and Klaassen, C. D. : Toxicity and Distribution of Cadmium Administered to Rats at Sublethal Doses. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **41**, 667, 1977.
 - 30) Sendelbach, L. E., Bracken, W. M. and Klaassen, C. D. : Comparisons of the Toxicity of CdCl₂ and Cd-Metallothionein in Isolated Rat Hepatocytes. *Toxicol.*, **55**, 83, 1989.
 - 31) Suzuki, K. T. and Yamamura, M. : Distribution of Cadmium in Liver and Kidney by Loading of Various Cd-Complexes and Relative Metal Ratios in the Induced Metallothioneins. *Biochem. Pharmacol.*, **28**, 3643, 1979.
 - 32) Michael, T. M., Waalkes, W. P. and Klaassen, C. D. : Distribution of Cadmium After Oral Administration of Cadmium-Thionein to Mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **74**, 237, 1984.
 - 33) Dudley, R. E., Svovoda, D. J. and Klaassen, C. D. : Acute Exposure to Cadmium Causes Severe Liver Injury in Rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **65**, 302, 1982.
 - 34) Cherian, M. G. : Induction of Renal Metallothionein Synthesis by Parenteral Cadmium-Thionein in Rats. *Biochem. Pharmacol.*, **27**, 1163, 1978.
 - 35) Lehman, L. D. and Klaassen, C. D. : Dosage-Dependent Disposition of Cadmium Administered Orally to Rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **84**, 159, 1986.
 - 36) 차철환 : 마늘이 백서의 중금속 중독에 미치는 영향에 관한 연구. *대한보건협회지*, **14**(1), 3-14, 1988.
 - 37) 강영미, 이용옥 : 백서에서 셀레늄 및 아연이 카드뮴 독성에 미치는 영향. *환경위생학회지*, **16**(1), 29-43, 1990.
 - 38) 안령미, 김완태, 이희성 : 카드뮴 독성에 대한 부추의 방어효과. *환경위생학회*, **17**(2), 102-113, 1991.
 - 39) 김 현, 조수현 : 한국인 체내 카드뮴 농도의 기하평균치와 참고치의 추정에 관한 연구. *대한산업의학회지*, **3**(1), 76-91, 1991.
 - 40) Colucci, A. V., Winge, D. and Krasno, J. : Cadmium Accumulation in Rat Liver. *Arch. Environ. Health*, **30**, 153, 1975.
 - 41) Teare, F. W., Read, R. R., Pyttel, R. B. and Jansky, P. A. : Short and Longterm Cadmium Distribution in Rat Livers After Different Routes of Administration. *Arch. Environ. Health*, **33**, 53, 1978.
 - 42) Hammond, P. B. and Foulkes, E. C. : Metal Ion Toxicity in Man and Animals. In Siegel, H. (ed.), *Metal Ions in Biological Systems*. Vol. 20, Marcel Dekker, New York, pp. 177-182, 1986.